

20.
24



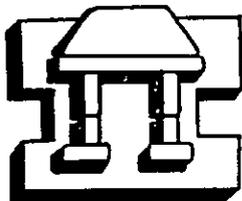
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

**“CARACTERISTICAS HISTOPATOLOGICAS DEL
HIGADO Y CUANTIFICACION SERICA DE
TRIGLICERIDOS EN EL RATON DE LOS VOLCANES
(*Neotomodon a. alstoni*) CON LIPOMAS”**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
J A I M E D I E G O M A G A Ñ A



DIRECTOR DE TESIS: MVZ. EDPV. AGUSTIN CARMONA CASTRO

IZTACALA LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MEX.

1999

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

277236



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO**PAGINA**

DEDICATORIAS	i
AGRADECIMIENTOS	ii
I. RESUMEN	iii
II. INTRODUCCION	1
III. ANTECEDENTES	2-12
IV. HIPOTESIS	13
V. OBJETIVO GENERAL	13
VI. OBJETIVOS ESPECIFICOS	13
VII. MATERIAL Y METODOS	14-18
VIII. RESULTADOS	19-30
IX. DISCUSION	31-36
X. CONCLUSIONES	36
XI. LITERATURA CITADA	37-40

DEDICATORIAS

A mis padres y hermano por su apoyo incondicional en los momentos importantes de mi vida.

Al Dr. Agustín Carmona Castro por su excelente dirección de mi tesis y por motivarme siempre en la investigación que realizamos juntos.

Si

Si puedes estar firme cuando a tu alrededor
todo el mundo se ofusca y tacha tu entereza.
Si cuando dudan todos, confías en tu valor
y al mismo tiempo sabes excusar tu flaqueza.
Si puedes mantener en la ruda pelea,
alerta el pensamiento y el músculo tirante,
para emplearlos cuando en ti todo flaquea,
menos la voluntad que te dice: "Adelante".
Si entre la turba das a la virtud abrigo;
si marchando con reyes del orgullo has triunfado;
si no pueden herirte ni amigo ni enemigo;
si eres bueno con todos, pero no demasiado;
y si puedes llenar los preciosos minutos,
con sesenta segundos de combate bravío,
tuya es la Tierra y todos sus codiciados frutos,
y lo que más importa, serás Hombre, hijo mío.

Rudyard Kipling

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Agustín Carmona Castro por su paciencia y apoyo incondicional durante la realización de mi tesis.

A mis profesores por contribuir a mi formación profesional.

Muy especialmente a la Biól. Carmen Alvarez Rodríguez por permitirme el uso de las instalaciones y equipos del laboratorio anexo de Biología del Desarrollo de esta institución.

A mis sinodales por sus valiosas sugerencias que contribuyeron al enriquecimiento de mi tesis.

A los MVZ. Jesús Delgado y Agustín por el cuidado que le proporcionaron a los animales que utilicé.

A los técnicos académicos Yolanda Adán Rodríguez, Jesús y Guillermo Espinosa Villanueva por su apoyo en la presente investigación.

A mis compañeros y amigos de carrera porque con ellos compartí muchos momentos agradables.

A los ratones de los volcanes que utilicé en mi tesis porque gracias a ellos es como avanza la investigación biomédica.

I. RESUMEN

En la presente investigación se estudió la relación entre la presencia de lipomas y el desarrollo de esteatosis hepática en el ratón de los volcanes (*Neotomodon a. alstoni*). Se utilizaron tres grupos de ratones con un intervalo de edad de 300 a 350 días: el grupo I estuvo integrado por ratones con lipomas; el II por ratones sin lipomas y el III por ratones silvestres recién capturados, cada uno con 14 animales. Los ratones de los grupos I y II fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial para roedores (BIO-DIETA-LAB). Para establecer la presencia de esteatosis hepática se procesaron 6 muestras por cada grupo, mediante las técnicas de hematoxilina-eosina y Sudán IV. La cuantificación sérica de triglicéridos se realizó por duplicado en las 42 muestras que se obtuvieron de los ratones de los tres grupos. Los ratones con lipomas presentaron esteatosis hepática microvacuolar de distribución periportal, hipertrofia de los hepatocitos e hipertrigliceridemia con respecto a los ratones sin lipomas y silvestres. En los ratones con lipomas se observó una correlación positiva entre el peso corporal y la concentración sérica de triglicéridos. Estos resultados muestran que la esteatosis hepática en esta especie se asocia a la presencia de lipomas y a la obesidad.

Algunos factores predisponentes involucrados en el desarrollo de la esteatosis hepática en este roedor son: el nivel energético de la dieta, la reducción en la actividad motora y la predisposición genética. El ratón de los volcanes puede constituir un modelo animal adecuado para el estudio de la esteatosis hepática y la obesidad.

II. INTRODUCCION

Cuando se introducen animales silvestres al laboratorio, con la finalidad de estudiar sus características biológicas, uno de los principales problemas que se tienen es el desconocimiento de sus requerimientos nutricionales.

Generalmente, a estos animales se les proporcionan dietas comerciales, que en la mayoría de los casos no son las más adecuadas, debido a que pueden ocasionarles diversas alteraciones fisiológicas, que conllevan al desarrollo de obesidad y otros trastornos ocasionados por un inadecuado balance de nutrientes. Esto puede favorecer el desarrollo de enfermedades que pongan en peligro la salud de los animales, o en su defecto, que los resultados obtenidos de los estudios realizados en estos individuos no sean objetivos (Hafez, 1975).

Por otra parte, las patologías de origen alimenticio que padecen los animales silvestres cuando son introducidos al laboratorio, plantean la necesidad de desarrollar investigaciones que permitan determinar las alteraciones anatomofisiológicas por efecto de la dieta, en los órganos que intervienen en los procesos digestivos.

El ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) ha sido, recientemente introducido al laboratorio como modelo de estudio en reproducción y etología (Olivera *et al.*, 1986; Chávez y Villegas, 1993; Granados *et al.*, 1996). Esta especie en condiciones de cautiverio es susceptible al desarrollo de tumores de tejido adiposo (lipomas), desconociéndose hasta el momento, la etiología de éstos, aunque se sugiere que la dieta comercial con la que son alimentados puede contener una cantidad de lípidos y/o carbohidratos por encima de los requerimientos de esta especie (Carmona, 1994).

La formación de lipomas en este roedor sugiere severas alteraciones en la fisiología de los órganos involucrados en los procesos digestivos, principalmente el hígado. Tales alteraciones pueden conducir al desarrollo de esteatosis hepática; patología que se caracteriza por la presencia de hepatomegalia, coloración amarilla del hígado, aspecto graso al corte, hipertrigliceridemia e hiperlipoproteinemia (Latner, 1975; Contreras, 1989; Chandrasoma y Taylor, 1994; Tierney *et al.*, 1996).

III. ANTECEDENTES

3.1. Biología del ratón de los volcanes

El ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*, Merriam, 1898) es una especie endémica de la fauna mexicana, que pertenece al orden Rodentia y a la familia Cricetidae. Se distinguen tres subespecies dentro del género *Neotomodon*: *N. a. alstoni* para las poblaciones del Oeste del Río Balsas y la Sierra del Volcán Ajusco, *N. a. perotensis* para los ejemplares de Perote y *N. a. orizabae* para los del Pico de Orizaba (Álvarez y Mayo-Aceves, 1993). El ratón de los volcanes tiene una distribución restringida al Eje Neovolcánico Transversal; vive en las partes altas de las montañas, por encima de los 2500 m s n m. El habitat de este roedor está constituido por bosque mixto de pino-oyamel en las partes altas y pino-encino en las partes bajas, asociada a este tipo de vegetación existe una variedad de gramíneas, llamadas comúnmente zacatón, entre las que se encuentran los géneros *Stipa*, *Muhlenbergia* y *Festuca* (Villa, 1953; Álvarez y Mayo-Aceves, 1993).

Este roedor tanto en condiciones naturales como en el cautiverio se reproduce todo el año, con máximos en primavera-verano (Chávez, 1988); presenta varios ciclos estrales al año, con una duración promedio de 4.5 días y un período de gestación de 27 días (Olivera, 1984). Estudios de laboratorio señalan que presenta cuidados paternos, lo cual hace suponer que se trata de una especie monogámica (Luis *et al.*, 1998).

3.2. Hábitos alimenticios en condiciones naturales

En cuanto a sus hábitos alimenticios en estas condiciones, se cuenta con un primer estudio (Álvarez y Mayo-Aceves, 1993), en el cual se analizó el contenido estomacal de los ratones de los volcanes de diferentes regiones del Valle de México.

Estos investigadores señalan que la dieta de este roedor está constituida por plantas herbáceas como *Trifolium*, *Bidens triplinervia* (Compositae) y *Rumex acetocella* (Polygonaceae); frutos como fresa (*Fragaria*) y zarzamora (*Rubus*), en la temporada de lluvias y capulincillo (*Pernettya*), a finales del año; granos de polen de *Trifolium*, *Ambrosia*, *Salvia*, *Zephyranthes*, *Rhus*, *Ribes*, *Salix*, *Alnus*, *Pinus* y *Quercus*. Además, de insectos (coleópteros) Scarabaeidae, Tenebrionidae, Carabidae y Curculionidae; así como de hormigas (Formicidae) y de las larvas de lepidópteros (Noctuidae). También encontraron que había diferencias en el contenido estomacal de los ratones de cada región, que dependían de las variaciones ecológicas y estacionales, de tal forma que su alimentación en la temporada de secas (noviembre-abril) es a base de tejido vegetal; en tanto que en la temporada de lluvias (mayo-octubre), consiste principalmente de insectos. Este estudio constituye una primera aproximación al conocimiento de sus hábitos alimenticios en condiciones naturales; sin embargo, hacen falta investigaciones sobre sus requerimientos alimenticios en el cautiverio, que permitan su reproducción y mantenimiento sin problemas de obesidad y desarrollo de tumores adiposos.

3.3. Generalidades de los lípidos

Por su estructura química los lípidos se clasifican en simples y compuestos; los primeros están constituidos por glicerol y ácidos grasos, mientras que los compuestos tienen como principal constituyente glicerol o esfingosina, a los cuales pueden agregarse moléculas de ácidos grasos, radicales fosfóricos o nitrogenados e hidratos de carbono. Dentro de los lípidos simples se encuentran los glicéridos, formados por la unión de ácidos grasos al glicerol y las ceras, que son ésteres de alcoholes alifáticos o cíclicos unidos a ácidos grasos de cadena larga; en tanto que dentro de los lípidos compuestos figuran los fosfolípidos y los esfingolípidos (Farías, 1988).

Dentro del grupo de los lípidos simples son de particular importancia clínica los triglicéridos, debido a que éstos se pueden almacenar en exceso en tejidos como el hepático, pudiendo contribuir en el desarrollo de hepatopatías como el hígado graso, ^{de este tipo de hepatopatías} motivo por el cual en la presente investigación se les ha dado un peso significativo (Díaz y Hicks, 1988; Farías, 1988).

3.3.1. Naturaleza química de los triglicéridos

Químicamente, los triglicéridos están constituidos por un esqueleto de glicerol unido a 3 ácidos grasos esterificados (Latner, 1975).

3.3.2. Biosíntesis de los triglicéridos

La biosíntesis de los triglicéridos tiene lugar prácticamente en todos los tejidos, aunque en el hepático y adiposo ésta se realiza en mayor cantidad. Los triglicéridos sintetizados en el hígado son utilizados, en su mayor parte, para la formación de lipoproteínas y fosfolípidos, además los metabolitos de los triglicéridos son utilizados para otras funciones hepáticas. Los triglicéridos sintetizados en el tejido adiposo se unen a los de procedencia exógena para ser acumulados como reserva energética. Tal acúmulo es relativamente corto, ya que en condiciones normales, en el tejido adiposo hay continua síntesis y lipólisis de éstos (Montgomery *et al.*, 1992).

En la primera etapa de su biosíntesis, un ácido graso se une a un acil-CoA por acción de la tiocinasa, a expensas del adenosín trifosfato y coenzima A. El grupo acilo del acil-CoA se esterifica con el hidroxilo del C₁ del glicerol-3-fosfato (G3P). En el proceso se forma el 1-acilglicerol-3-fosfato (o lisofosfatidato), y puede llevarse a cabo por dos caminos diferentes. En uno de ellos, el grupo acilo es transferido a la molécula de dihidroxiacetona fosfato (DHAP) antes de que ésta se reduzca para formar el G3P. En el otro, la transferencia se realiza directamente sobre el G3P, formando precisamente en la reducción previa de la DHAP o de la fosforilación directa del glicerol por la glicerol cinasa.

Las enzimas que catalizan estas transferencias de grupos acilo en la formación del lisofosfatidato o del G3P se denominan dihidroxiacetona fosfatoaciltransferasa y glicerol-3-fosfato-aciltransferasa, respectivamente. Esto depende del residuo que utilicen, y en ambos casos esterifican preferentemente radicales de ácidos grasos saturados (Montgomery *et al.*, 1992).

En la segunda etapa, un residuo de ácido graso insaturado procedente del acil-CoA correspondiente, es transferido al hidroxilo en posición 2 del lisofosfatidato por una lisofosfatidato acil-transferasa, formándose el 1,2-diacilglicérido-3-fosfato (o fosfatidato). El fosfatidato es transformado por acción de una fosfatasa (fosfatidato fosfohidrolasa) en un 1,2-diacilglicérido. Esta misma molécula se llega a formar en la mucosa intestinal a partir de 1 monoacilglicérido, por la presencia de una monoacilglicerol aciltransferasa. Finalmente, una diacilgliceroltransferasa transfiere otro residuo de ácido graso al 1,2-diacilglicérido, formando la molécula de triglicérido. Esta última transferencia tiene lugar indistintamente con residuos de ácidos grasos saturados o insaturados (Montgomery *et al.*, 1992).

3.3.3. Digestión y absorción de los triglicéridos

Durante el proceso de digestión, los triglicéridos ingeridos son primeramente emulsificados, y después pasan por lipólisis enzimática. La mezcla resultante es convertida en agregados conocidos como micelas, que son "solubilizadas" por un tipo de acción detergente. La formación de la emulsión es iniciada por el proceso de masticación y después por las contracciones gástricas. El contenido gástrico tiene algunos ácidos grasos libres (AGL), posiblemente debido a la acción de la lipasa gástrica. Posteriormente la emulsificación ocurre en el duodeno y en el intestino delgado, la cual se efectúa gracias a la peristalsis, que es ayudada por la presencia de las sales biliares; los monoglicéridos (provenientes de la lipólisis); el incremento de fosfolípidos y lisolecitina, así como por la acción de la fosfolipasa A del jugo pancreático.

La lipasa pancreática hidroliza las posiciones 1 y 3 de los triglicéridos, formando 2-monoglicéridos, 1-2 y 2-3-diglicéridos, así como jabones de los AGL. Cerca del 75 % de los ácidos grasos de los triglicéridos es liberado por lipólisis (Latner, 1975).

Las micelas de triglicéridos parecen difundirse pasivamente a través de las microvellosidades intestinales. Una vez que las micelas las han atravesado, los ácidos grasos y los monoglicéridos son reesterificados a triglicéridos. Posteriormente son cubiertos por un recubrimiento proteico, fosfolípidos y colesterol para formar pequeñas gotas conocidas como quilomicrones (Latner, 1975; Herrera, 1991).

3.3.4. Transporte de los triglicéridos

Debido a su insolubilidad en agua, los triglicéridos son transportados en el plasma en combinación con otros fosfolípidos y proteínas, así como con colesterol y sus ésteres, en forma de macromoléculas complejas de lipoproteínas de muy baja densidad (LPMBD) y de baja densidad (LPBD) (Kaplan y Pesce, 1989; Herrera, 1991).

3.3.5. Incorporación de los triglicéridos al plasma

La concentración de triglicéridos en el plasma es un balance entre la tasa de entrada y su eliminación; los triglicéridos tienen dos vías de incorporación al plasma, una intestinal y otra hepática. En la intestinal participa el lumen, que hidroliza a los triglicéridos a AGL y monoglicéridos, los cuales eventualmente son liberados a la circulación como triglicéridos en forma de quilomicrones. Después de la ingesta de alimento ocurre una entrada masiva de quilomicrones al plasma, la cual persiste por varias horas hasta que la grasa es absorbida, produciendo un incremento en la concentración de triglicéridos plasmáticos, de tal manera que el plasma se observa turbio (respuesta lipémica alimenticia). Sin embargo, este incremento es relativamente pequeño comparado con la magnitud de triglicéridos totales que son transportados por el plasma (Kaplan y Pesce, 1989).

El hígado es la segunda vía de incorporación de triglicéridos al plasma; éstos son sintetizados a partir de los AG derivados de los triglicéridos de los adipocitos (lipólisis), de la glucólisis adiposa y del catabolismo de los carbohidratos y proteínas. A pesar de estas variaciones en el origen de los AG de los triglicéridos liberados por el hígado, es importante darse cuenta que el proceso de liberación *per se* es continuo y que, exceptuando la absorción de grasa proveniente de la dieta, el hígado es el principal contribuyente de triglicéridos al plasma (Kaplan y Pesce, 1989).

3.3.6. Acumulación de los triglicéridos en los adipocitos

La fracción gliceril del triglicérido procede de la glucosa que liberan los adipocitos a través de la sangre. Algunos AG que se incorporan a los triglicéridos son sintetizados en los adipocitos a partir de la glucosa, el resto se reparte a través de la sangre en forma de triglicéridos incorporados a lipoproteínas plasmáticas, ya sean quilomicrones o LPMBD. En ambos casos los triglicéridos de las lipoproteínas deben ser hidrolizados por la lipoproteína lipasa para que los AG puedan entrar en los adipocitos. Tanto el transporte de glucosa al interior de los adipocitos como la hidrólisis por la lipoproteína lipasa son mediadas por la insulina (Montgomery *et al.*, 1992).

3.3.7. Movilización de los triglicéridos

La hidrólisis de triglicéridos a AGL y glicerol (lipólisis) ocurre en todos los tejidos del organismo, aunque se ha visto que el intestino y el tejido adiposo la realizan en mayor proporción. En el intestino, la lipólisis se ejerce sobre los acilglicéridos de la dieta por acción de la lipasa pancreática e intestinal; mientras que en el tejido adiposo, la lipólisis facilita la movilización de AGL y glicerol a la circulación, constituyendo así, la principal fuente de estos metabolitos para el plasma. La lipólisis del tejido adiposo se realiza en tres etapas, en las cuales se forman como productos intermedios los 1,2-

diglicéridos y 2-monoglicéridos, terminando con la formación de glicerol; en cada una de ellas se va desprendiendo una molécula de AGL.

En consecuencia los productos finales del proceso son tres moléculas de AGL y una de glicerol. La lipasa que cataliza esta hidrólisis es un sistema enzimático formado por dos enzimas distintas: la triglicérido lipasa, también denominada lipasa sensible a las hormonas, que cataliza las dos primeras etapas de la reacción, y la monoglicerol lipasa, que cataliza la última etapa del proceso (Herrera, 1991).

3.3.8. Regulación de la lipólisis

Cuando existe hiperglicemia e hiperinsulinemia se estimula la acumulación de triglicéridos en el tejido adiposo, en tal caso, disminuye el contenido de adenosin monofosfato cíclico (AMP_c) de los adipocitos. En el caso contrario se favorece la movilización de AG en estas células (Herrera, 1991; Montgomery *et al.*, 1992). La lipólisis está regulada por ciertas hormonas como la adrenalina, noradrenalina, adrenocorticotrópica, glucagón, secretina, α y β -estimulante de los melanocitos, metilxantina, estimulante del tiroides, luteinizante, somatotropina coriónica, vasopresina, serotonina, glucoesteroides, hormonas tiroideas, cortisona y hormona del crecimiento (Herrera, 1991; Carmona, 1994).

3.3.9. Destino de los productos de la lipólisis

El hígado es el principal receptor de los productos de la lipólisis: glicerol y AGL; en este tejido se incorporan también otras fracciones derivadas de los glicéridos circulantes. El glicerol es inmediatamente transformado en G3P, por acción de la glicerolcinasa, tras su oxidación a DHAP, es utilizado junto con otros substratos gluconeogénicos como la alanina, lactato y piruvato, para la síntesis de glucosa. También puede ser transformado en acetyl-CoA y ser oxidado a través del ciclo de los ácidos tricarbónicos, o bien, ser utilizado en la síntesis de AG. Además, el G3P puede ser esterificado en el hígado con los acil-CoA formados de los AGL provenientes de la

sangre o aquéllos que son sintetizados en éste, como resultado se forman triglicéridos, que junto con los procedentes de la captación de lipoproteínas circulantes, son temporalmente acumulados en el hígado para su posterior utilización (Herrera, 1991).

La capacidad del hígado para acumular triglicéridos es limitada y cuando se supera se producen daños, que pueden conllevar a cirrosis hepática (Herrera, 1991). Los triglicéridos formados son canalizados por el hígado para la formación de LPMBD y para ser segregados a la circulación o hidrolizados a glicerol y AGL por acción de las triglicérido lipasas hepáticas, lipasa hepática y triglicérido lipasa lisosómica, esta última facilita la hidrólisis de los triglicéridos que llegan al interior de los lisosomas por autofagocitosis celular, mediante un proceso hormonal, en el cual el glucagón participa como activador y la insulina como inhibidor desconociéndose sus mecanismos de acción. La canalización de los productos de la lipólisis hacia las distintas vías metabólicas depende de muchos factores, entre los cuales destacan la disponibilidad de substratos de otras procedencias (dieta y síntesis endógena) y la situación endocrina del individuo (Herrera, 1991).

3.3.10. Interrelación del metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos

Los metabolitos de los carbohidratos pueden formar AG y esqueletos de carbono de ciertos aminoácidos, los cuales pueden convertirse en carbohidratos. A través de procesos inversos los carbohidratos son convertidos en AG y grasas neutras, o bien, en aminoácidos no esenciales por aminación de los intermediarios de los ácidos α -ceto; piruvato \rightarrow alanina, oxaloacetato \rightarrow ácido aspártico y ácido α -cetoglutámico \rightarrow ácido glutámico.

En el hígado cada fragmento de "acetato activo" puede tomar una de las siguientes vías metabólicas: condensación con oxaloacetato formando citrato para así incorporarse al ciclo de los ácidos tricarbóxicos, síntesis de AG, síntesis de colesterol y condensación con una molécula de "acetoacetato activo", para formar acetoacetato (Kaplan y Pesce, 1989).

3.4. Definición de lipoma y localización

El lipoma es una neoplasia benigna del tejido adiposo blanco que tiene importancia clínica en especies domésticas. Es frecuente en el tejido subcutáneo de la región del dorso, tórax, zona interescapular y abdomen (Winter, 1989).

3.5. Bases bioquímicas de su desarrollo

En cuanto a las bases bioquímicas de su desarrollo en humanos se encuentran principalmente las alteraciones del metabolismo de los lípidos, dentro de las cuales figura la hiperlipidemia asociada a factores hereditarios, corticoesteroides, estrógenos, diabetes mellitus, hipotiroidismo y alcoholismo, que ocasionan la acumulación anormal de tejido adiposo (Díaz y Hicks, 1988; Winter, 1989; Kaplan y Pesce, 1989; Herrera, 1991; Montgomery *et al.*, 1992).

3.6. Incidencia de lipomas en el ratón de los volcanes

El ratón de los volcanes en el cautiverio presenta una incidencia de lipomas de 9.9 %, siendo ésta más elevada en los machos que en las hembras. La predisposición a este tipo de neoplasia se incrementa con la edad. Comparativamente los lipomas que se desarrollan en la hembra tienden a ser de mayor tamaño que en los machos (Carmona, 1994).

3.7. Características macroscópicas e histológicas de los lipomas en el ratón de los volcanes

En esta especie se han observado tres tipos de neoplasias derivadas del tejido adiposo: lipoma, hibernoma y lipoma mixto, siendo el primero de ellos el que se presenta con mayor frecuencia. Macroscópicamente, los tres tipos de neoplasias pueden presentar una forma nodular, lobular o multilobular cuando están bien

desarrollados; en tanto que los incipientes generalmente son amorfos. La consistencia de este tipo de neoplasias es blanda, pero en algunos casos, por la presencia de una cápsula de tejido conectivo se hacen firmes.

Los adipocitos en estas neoplasias se observan agrupados en lobulillos, separados por trabéculas de tejido conectivo vascularizado (Carmona, 1994).

En los lipomas los adipocitos tienen forma poligonal y están rodeados de fibras de colágena. El citoplasma presenta una sola gota de lípido y el núcleo por lo general es único, reniforme, excéntrico e hiperromático. En los hibernomas los adipocitos son poligonales; su membrana celular está rodeada por fibras de colágena, las cuales son eosinófilas con H y E. El núcleo de éstos es voluminoso, redondo y de posición central, y el citoplasma se caracteriza por presentar múltiples gotas de lípido.

En los lipomas mixtos se observan lóbulos de ambos tipos de tejido adiposo agrupados en una sola masa de células de aspecto hiperplásico. En la corteza de esta neoplasia se encuentran adipocitos uniloculares; mientras que en la médula hay una mayor cantidad de adipocitos multiloculares (Carmona, 1994).

3.8. Morfofisiología de la esteatosis hepática

La esteatosis hepática es un proceso degenerativo que se caracteriza por la aparición de grasa visible en células que normalmente no la contienen, tal y como es el caso de los hepatocitos (Cardenal, 1960; Pérez-Tamayo, 1990).

En el humano su etiología puede ser etanólica ó dietética; la etanólica está asociada al consumo desmedido de bebidas alcohólicas, mientras que la dietética está vinculada a obesidad, desnutrición aguda, polifagia, prolongada ingesta calórica, deficiencia de cofactores lipotrópicos, como colina y metionina, actividad física reducida, factores hereditarios y endocrinos (Lorenz y Cornelius, 1990; Tierney *et al.*, 1996).

Otros factores que influyen en el desarrollo de la esteatosis hepática son la diabetes mellitus, la administración crónica de corticoesteroides, la ingestión de venenos, como el tetracloruro de carbono y fósforo amarillo, algunas endocrinopatías (Síndrome de Cushing e hiperlipidemia) y nutrición parenteral total (Chandrasoma y Taylor, 1994; Tierney *et al.*, 1996).

La fisiopatología de la esteatosis hepática en humanos, implica el incremento en la movilización de ácidos grasos de los depósitos periféricos, la disminución en la utilización u oxidación de ácidos grasos, incremento en la síntesis de ácidos grasos y en la esterificación de éstos a triglicéridos, así como una disminución en la secreción o liberación de grasa hepática (Chandrasoma y Taylor, 1994).

En el humano se describen dos tipos de esteatosis hepática: la aguda, que es poco frecuente y se asocia con insuficiencia hepática aguda, ésta se caracteriza por la acumulación de triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos, a manera de pequeñas vacuolas de grasa, por lo que se le conoce como degeneración grasa microvacuolar.

La esteatosis hepática crónica es más frecuente, se asocia con alcoholismo crónico, desnutrición y diversas hepatotoxinas. En ésta el citoplasma de los hepatocitos presenta vacuolas de grasa que se fusionan para formar glóbulos con progresión mayor, originando lo que se conoce como degeneración grasa macrovacuolar (Chandrasoma y Taylor, 1994). Tanto en la esteatosis hepática crónica como en la aguda se observa hepatomegalia, coloración amarilla del parénquima y aspecto graso al corte. Histológicamente, las células que se encuentran en etapas más tempranas de la degeneración grasa se caracterizan por la presencia de citoplasma pálido, espumoso y vacuolas citoplásmicas, cuyo tamaño se incrementa en etapas avanzadas (Chandrasoma y Taylor, 1994).

IV. HIPOTESIS

Se espera que los ratones con lipomas presenten una concentración sérica de triglicéridos más elevada que los que no presentan esta neoplasia, y que además, la hipertrigliceridemia se correlacione con la presencia de esteatosis hepática.

V. OBJETIVO GENERAL

Determinar las características histopatológicas del hígado y cuantificar la concentración sérica de triglicéridos en el ratón de los volcanes con y sin lipomas.

VI. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Confirmar a través de técnicas histológicas específicas para lípidos la presencia de esteatosis hepática en ratones de los volcanes con lipomas.

Determinar por medio de técnicas micrométricas el tamaño de los hepatocitos de los ratones con lipomas, sin lipomas y silvestres, a fin de compararlo.

Comparar la concentración sérica de triglicéridos de los ratones con lipomas, sin lipomas y silvestres.

IV. HIPOTESIS

Se espera que los ratones con lipomas presenten una concentración sérica de triglicéridos más elevada que los que no presentan esta neoplasia, y que además, la hipertrigliceridemia se correlacione con la presencia de esteatosis hepática.

V. OBJETIVO GENERAL

Determinar las características histopatológicas del hígado y cuantificar la concentración sérica de triglicéridos en el ratón de los volcanes con y sin lipomas.

VI. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Confirmar a través de técnicas histológicas específicas para lípidos la presencia de esteatosis hepática en ratones de los volcanes con lipomas.

Determinar por medio de técnicas micrométricas el tamaño de los hepatocitos de los ratones con lipomas, sin lipomas y silvestres, a fin de compararlo.

Comparar la concentración sérica de triglicéridos de los ratones con lipomas, sin lipomas y silvestres.

IV. HIPOTESIS

Se espera que los ratones con lipomas presenten una concentración sérica de triglicéridos más elevada que los que no presentan esta neoplasia, y que además, la hipertrigliceridemia se correlacione con la presencia de esteatosis hepática.

V. OBJETIVO GENERAL

Determinar las características histopatológicas del hígado y cuantificar la concentración sérica de triglicéridos en el ratón de los volcanes con y sin lipomas.

VI. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Confirmar a través de técnicas histológicas específicas para lípidos la presencia de esteatosis hepática en ratones de los volcanes con lipomas.

Determinar por medio de técnicas micrométricas el tamaño de los hepatocitos de los ratones con lipomas, sin lipomas y silvestres, a fin de compararlo.

Comparar la concentración sérica de triglicéridos de los ratones con lipomas, sin lipomas y silvestres.

VII. MATERIAL Y METODOS

7.1. Animales

La presente investigación se realizó con ratones de los volcanes adultos (*Neotomodon a. alstoni*) con una edad de 300 a 350 días; los cuales se agruparon de la siguiente forma: el grupo I estuvo integrado por ratones con lipomas bien desarrollados; el II por animales sin lipomas y el III por ratones silvestres recién capturados. Cabe destacar que en cada uno de estos grupos se incluyeron 7 hembras y 7 machos.

Los ratones de los dos primeros grupos fueron obtenidos de una colonia de esta especie establecida en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM, que se mantuvo bajo un rango de temperatura de 18 a 23 ° C, humedad ambiental (50 a 60 % de humedad relativa) y un fotoperíodo de 12 horas-luz. Los ratones fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial para roedores, BIO-DIETA-LAB (cuya composición se muestra a continuación) y agua.

Proteína cruda, no menos de	23.0 %
Grasa cruda, no menos de	4.5 %
Fibra cruda, no más de	6.0 %
Cenizas, no más de	8.0 %
Minerales añadidos, no más de	2.5 %
E.L.N.	56.0 %
T.N.D.	79.76 %
E.D. (Kcal/g)	3.50
E.M. (Kcal/g)	2.88

Los ratones del grupo III fueron capturados de octubre a diciembre de 1998 en una zona de la Sierra del Volcán Ajusco, cerca de Parres, D.F., entre los kilómetros 48 y 51 de la Carretera Federal México-Cuernavaca. Esta zona tiene una altitud entre los 2440 y los 2640 m s n m. Para las capturas se emplearon 20 trampas Sherman para roedores pequeños (27 x 10 x 7 cm), usando como cebo hojuelas de avena.

7.2. Sacrificio y perfusión de los animales

Los ratones de los tres grupos, previamente a su sacrificio, fueron sometidos a un periodo de ayuno de 15 horas. Asimismo, antes de su sacrificio fueron pesados utilizando una balanza de triple brazo con platillo-paleta (OHAUS). Una vez pesados, los ratones fueron anestesiados con éter hasta lograr anestesia profunda, enseguida por punción cardíaca se obtuvo 1 ml de sangre para la cuantificación sérica de triglicéridos. Posteriormente, para fijar el hígado, los animales fueron perfundidos con formalina al 10 % amortiguada. Una vez fijado el hígado, se extrajo y se conservó en la solución anteriormente citada para su posterior procesamiento histológico (Waynforth y Flecknell, 1994).

7.3. Técnicas histológicas (hematoxilina-eosina y Sudán IV)

7.3.1. Hematoxilina y eosina

La realización de las técnicas histológicas se basó en los procedimientos descritos por Estrada *et al.* (1982), en las que se describen los siguientes pasos:

- Lavado
- Deshidratación
- Aclaramiento
- Preinfiltración (parafina-xilol 1:1)
- Infiltración (parafina)
- Inclusión (paraplast)

- Corte (5 μm) y adhesión
- Tinción

7.3.2. Sudán IV

- Adhesión de la muestra a la platina del criostato
- Recubrimiento con "tissue tech"
- Congelación (- 20 ° C)
- Corte (8 μm)
- Hidratación (agua destilada)
- Contratinción (Hematoxilina de Harris)
- Tinción (Sudán IV)

7.4. Evaluación histológica

Para el análisis histológico del hígado se utilizaron 6 ratones de cada grupo (3 hembras y 3 machos). Las preparaciones fueron observadas bajo el microscopio óptico en aumentos de 10, 40 y 100 X; se analizaron y describieron las características de los hepatocitos, tomando en cuenta el tamaño celular, el aspecto del citoplasma, la posición del núcleo y su número. Se tomó como criterio para establecer la presencia de esteatosis hepática la observación de vacuolas lipídicas en el citoplasma (Andrade, 1979), el cual fue corroborado mediante la técnica específica para lípidos de sudán IV.

Las mediciones celulares se efectuaron a inmersión (100 X) utilizando un microscopio óptico (Zeiss) y una lente micrométrica de 9.0 unidades ópticas (U.O.). Se midieron 10 hepatocitos en 5 campos por animal ($n = 150$ hepatocitos). Asimismo, se tomaron fotomicrografías de las imágenes histológicas más representativas en aumentos de X52, X79 y X118.5.

7.5. Cuantificación sérica de triglicéridos

Para la cuantificación sérica de triglicéridos se realizaron dos determinaciones por individuo dentro de un mismo grupo, obteniéndose 14 muestras por cada grupo. Para tal efecto se utilizó el método colorimétrico-enzimático, (GPO-PAP, Test combinación, Boehringer), el cual se describe a continuación:

- **Preparación de la solución reactiva**
Se disolvió el liofilizado (enzimas/coenzima) en la solución amortiguadora y se mezcló por inversión durante 1 minuto.
- **Procedimiento**
Se pipeteó 1 ml de la solución reactiva en tubos de ensaye de 13 x 100 cm, a los cuales se les añadieron 10 μ l del suero problema a cada uno; se mezclaron manualmente y se incubaron a una temperatura de 20 a 25 °C durante 10 minutos. Cabe destacar que cada muestra se cuantificó por duplicado.
- **Lectura**
Se leyó a una longitud de onda de 546 nm en un espectrofotómetro (Espectronic 88, Bausch & Lomb), utilizando una cubeta de 1 cm de paso de luz.
- **Cálculo de la concentración de triglicéridos**
La concentración de triglicéridos se determinó multiplicando la absorbancia de la muestra problema por el factor de conversión preestablecido (1040).

7.6. Tratamiento estadístico de los datos

Para contrastar las diferencias en el tamaño de los hepatocitos, la concentración sérica de triglicéridos y el peso corporal entre los ratones de los tres grupos, se realizó un análisis de varianza de una sola vía, el cual fue complementado con una prueba de Bonferroni, a fin de efectuar la comparación múltiple de medias y establecer entre qué grupos había diferencias significativas. Asimismo, se realizaron pruebas de t no pareadas para contrastar las diferencias existentes entre los machos y las hembras de un mismo grupo.

Además, se efectuaron tablas de contingencia de chi cuadrada (2 x 2), a fin de determinar si existían diferencias significativas entre las frecuencias de la presencia de uno o dos núcleos en los hepatocitos de los diferentes grupos.

Finalmente, para establecer la posible existencia de correlación entre el peso corporal y la concentración sérica de triglicéridos, se realizó un análisis de regresión lineal en cada grupo.

VIII. RESULTADOS

8.1. Histología del hígado del ratón de los volcanes

La imagen microscópica del hígado de los ratones de los grupos II y III presentó las características histológicas normales que se han descrito en los roedores de laboratorio (Fawcett, 1994). Los hepatocitos presentaron forma poliédrica y tamaño variable, conservando su organización en cordones que se distribuyen radialmente hacia una vena central. Los espacios sinusoidales se observaron bien definidos, el citoplasma con la tinción de hematoxilina y eosina presentó un aspecto granular denso y eosinofílico (Fig. 1), el cual fue negativo a la presencia de vacuolas lipídicas con la tinción de Sudán IV (Fig. 2).

Los núcleos de los hepatocitos de los animales del grupo II y III presentaron forma redonda y tamaño variable, típicamente presentan un reborde de cromatina perinuclear y grumos de cromatina dispersa (Fig. 1). El 41.67 % de los hepatocitos de los ratones del grupo II presentó un núcleo y el 58.33 % dos núcleos. El 73.00 % de los hepatocitos de los ratones del grupo III presentó un núcleo y el 27.00 % dos núcleos, cada uno de ellos con un nucleolo.

8.2. Histopatología del hígado del ratón de los volcanes con lipomas

En los hepatocitos de los ratones del grupo I se observó una tendencia a perder la forma poliédrica y un aumento en el tamaño celular en relación a lo observado en los grupos II y III. Con la tinción de H y E el citoplasma de estas células se caracterizó por su aspecto pálido y espumoso, debido a los contornos vacíos, en donde existieron vacuolas lipídicas intracitoplásmicas de tamaño variable, con predominio de microvacuolas (Fig. 3), las cuales se pudieron evidenciar en el 100 % de los hepatocitos teñidos con Sudán IV, distribuyéndose con mayor densidad hacia la región periportal (Fig. 4). El 67.33 % de los hepatocitos presentó un núcleo mientras que el 32.67 % dos núcleos, cada uno de ellos con un nucleolo.

8.3. Tamaño de los hepatocitos

El tamaño promedio de los hepatocitos de los ratones entre los tres grupos fue significativamente diferente ($F = 336.49$, g.l. 2/897, $P < 0.0001$, Tabla 1). El tamaño de los hepatocitos de los ratones del grupo I fue mayor en relación al de los ratones del grupo II y III ($P < 0.001$, Bonferroni). Asimismo, el tamaño de los hepatocitos de los ratones del grupo II fue menor en relación a los del grupo III ($P < 0.001$, Bonferroni).

8.4. Concentración sérica de triglicéridos

No se encontraron diferencias significativas en la concentración sérica de triglicéridos entre machos y hembras de un mismo grupo, con excepción del grupo II ($t = 2.95$, g.l. 12, $P < 0.05$, Tabla 2). Sin embargo, la concentración sérica de triglicéridos en los ratones de los tres grupos (Fig. 5 y Tabla 3) fue significativamente diferente ($F = 46.05$, g.l. 2/39, $P < 0.0001$). La prueba de Bonferroni reveló que los ratones del grupo I tuvieron la concentración sérica de triglicéridos más elevada en relación a la de los grupos II ($P < 0.001$) y III ($P < 0.001$); en tanto que los ratones del grupo II presentaron una concentración más alta que los ratones del grupo III ($P < 0.01$).

Al comparar los pesos corporales promedio entre los sexos de un mismo grupo (Tabla 4), no se encontraron diferencias significativas en los grupos II ($t = 0.46$, g.l. 12, $P > 0.05$) y III ($t = 0.99$, g.l. 12, $P > 0.05$); mientras que en el grupo I las hembras presentaron un peso corporal promedio mayor que el de los machos ($t = 5.92$, g.l. 12, $P < 0.05$).

Por otra parte, al comparar los pesos corporales promedio por grupo (Tabla 5), se encontraron diferencias significativas ($F = 91.36$, g.l. 2/39, $P < 0.0001$). La prueba de Bonferroni indicó que el peso corporal promedio de los ratones del grupo I fue significativamente mayor al de los ratones del grupo II ($P < 0.001$) y III ($P < 0.001$); mientras que no se encontraron diferencias entre los ratones de los grupos II y III ($P > 0.05$).

No se encontró correlación entre el peso corporal y la concentración sérica de triglicéridos en los grupos II ($r = 0.17$, $P = 0.558$) y III ($r = -0.38$, $P = 0.148$); en tanto que en el grupo I se encontró una correlación positiva (Fig. 6) entre estos parámetros ($r = 0.56$, $P = 0.036$).



Fig. 1. Fotomicrografías de la región periportal del hígado del ratón de los volcanes. A) Corresponde a la imagen de los hepatocitos de un ratón de laboratorio sin lipomas (grupo II), en la que se aprecian células de citoplasma eosinofílico granular denso. B) Muestra la misma región hepática, pero en un ratón silvestre (grupo III), en la que se observan células con características similares a las descritas anteriormente. Núcleo (N), cromatina (C) nucleolo (n), espacio sinusoidal (S), célula de Kupffer (CK). (H y E, X118.5).



Fig. 2. A) Aspecto de la región centrolobulillar y área periportal (margen superior izquierdo e inferior derecho, respectivamente) del hígado de un ratón de laboratorio sin lipomas. Observe la ausencia de vacuolas lipídicas intracitoplásmicas. B) Aspecto de la región periportal del hígado de un ratón silvestre, en el cual también se denota la ausencia de vacuolas lipídicas intracitoplásmicas. Núcleo (N), vena central (VC), espacio sinusoidal (S), cordones hepáticos (CH) y región periportal (RP) (Sudán IV, X79).

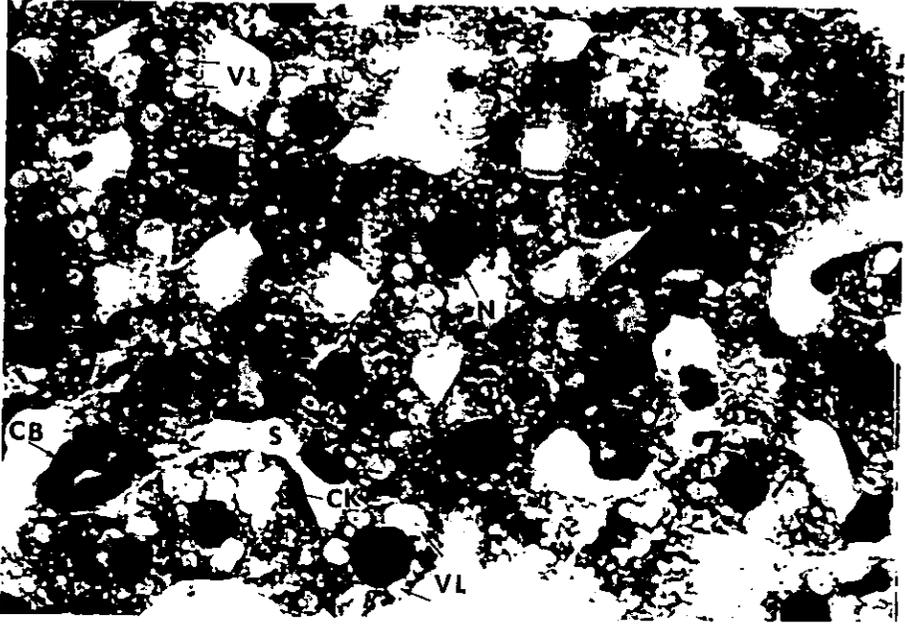


Fig. 3. Aspecto de la región periportal del hígado del ratón de los volcanes con lipomas (grupo I), en donde se observó esteatosis hepática, en la cual el citoplasma de estas células presentó un aspecto pálido y espumoso, debido a los contornos vacíos, en los cuales existieron vacuolas lipídicas intracitoplásmicas que fueron disueltas durante el procesamiento histológico. Núcleo (N), vacuolas lipídicas (VL), conducto biliar (CB), espacio sinusoidal (S) y célula de Kupffer (CK), (H y E, X118.5).

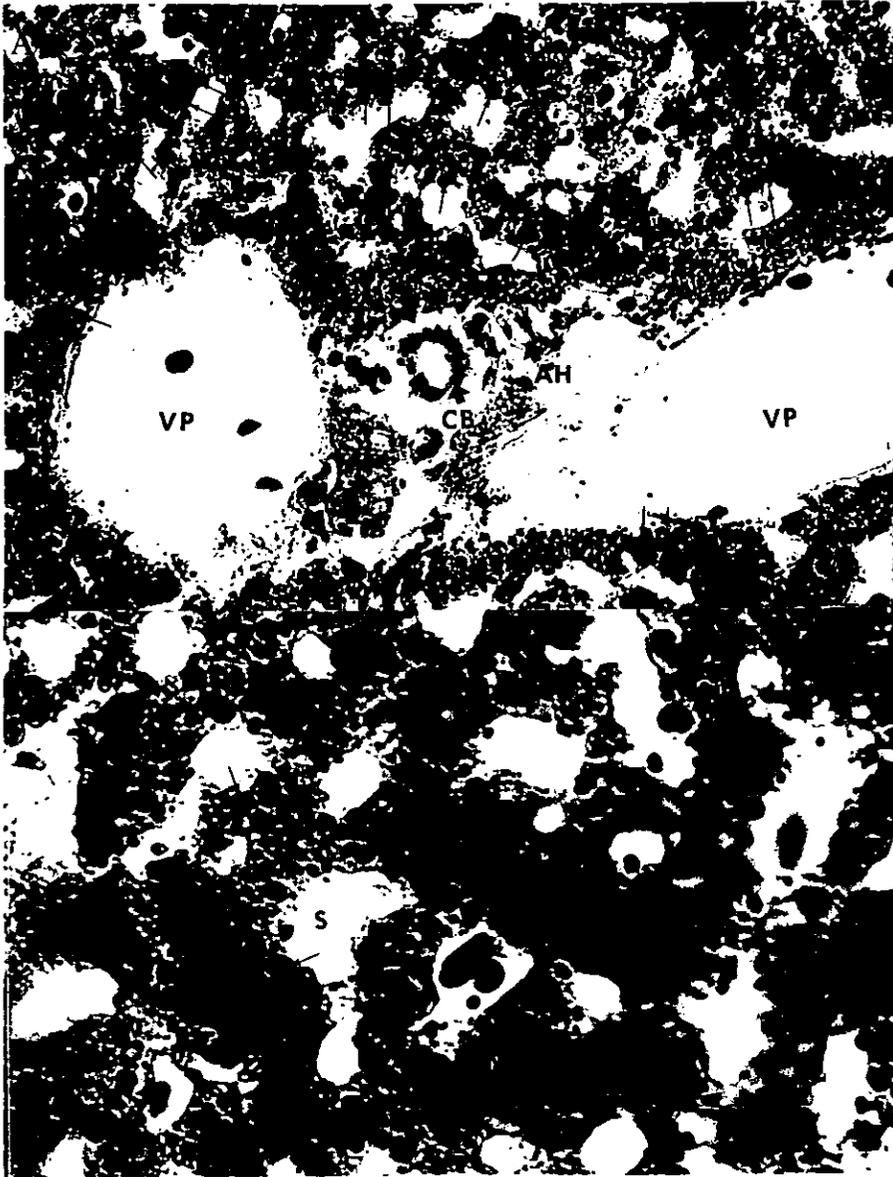


Fig. 4. Fotomicrografías en las que se muestra la esteatosis hepática en el ratón de los volcanes. A) Area periportal en la que se observa el espacio porta rodeado por una gran cantidad de vacuolas lipídicas (flechas delgadas), vena porta (VP), conducto biliar (CB) y arteria hepática (AH), Sudán IV, X52. B) Amplificación de la imagen anterior donde se observa con mayor detalle la presencia de una gran cantidad de vacuolas lipídicas intracitoplásmicas (flechas), núcleo (N), espacio sinusoidal (S), Sudán IV, X118.5.

Tabla 1. TAMAÑO DE LOS HEPATOCITOS

GRUPOS	I (n = 300)	II (n = 300)	III (n = 300)
PROMEDIO \pm DE (μm)	11.49 \pm 3.43	6.35 \pm 2.18	7.22 \pm 1.93
GRUPOS COMPARADOS (PRUEBA DE BONFERRONI)	I vs. II P < 0.001	I vs. III P < 0.001	II vs. III P < 0.001

Grupo I: ratones de laboratorio con lipomas

Grupo II: ratones de laboratorio sin lipomas

Grupo III: ratones silvestres

Tabla 2. CONCENTRACION SERICA DE TRIGLICERIDOS POR SEXO

SEXO	GRUPO I mg/dl	GRUPO II mg/dl	GRUPO III mg/dl
MACHOS (M), n = 7	204.30 \pm 78.67	141.10 \pm 23.14	60.90 \pm 5.28
HEMBRAS (H), n = 7	279.30 \pm 76.41	109.90 \pm 15.72	59.40 \pm 5.54
M vs. H (Del mismo grupo)	t = 1.81, g.l. 12 P > 0.05	t = 2.95, g.l. 12 P < 0.05	t = 0.52, g.l. 12 P > 0.05

La concentración sérica de triglicéridos está expresada como media \pm DE

Tabla 3. CONCENTRACION SERICA DE TRIGLICERIDOS POR GRUPO

GRUPO	TRIGLICERIDOS (mg/dl) $X \pm DE$	RANGO (mg/dl)	GRUPOS COMPARADOS (PRUEBA DE BONFERRONI)
I	241.80 \pm 84.06	124.80 a 348.40	I vs. II P < 0.001
II	125.50 \pm 24.97	93.60 a 176.80	I vs. III P < 0.001
III	60.20 \pm 5.25	51.10 a 65.50	II vs. III P < 0.01

Grupo I: ratones de laboratorio con lipomas

Grupo II: ratones de laboratorio sin lipomas

Grupo III: ratones silvestres

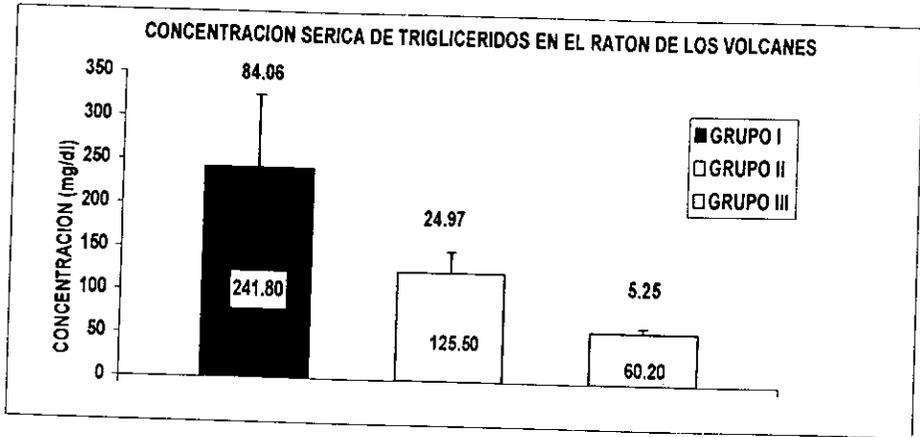


Fig. 5. La concentración sérica de triglicéridos en los ratones de laboratorio con lipomas (grupo I, $n = 14$) fue muy elevada ($P < 0.001$) en relación a la de los ratones de laboratorio sin lipomas (grupo II, $n = 14$) y silvestres (grupo III, $n = 14$), aunque también se encontraron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre los ratones de los grupos II y III.

Tabla 4. PESO CORPORAL POR SEXO

SEXO	GRUPO I (g)	GRUPO II (g)	GRUPO III (g)
MACHOS (M), n = 7	55.9 ± 2.68	43.3 ± 3.43	43.2 ± 1.27
HEMBRAS (H), n = 7	65.2 ± 3.18	44.0 ± 2.05	44.3 ± 2.66
M vs. H (Del mismo grupo)	t = 5.92, g.l. 12 P < 0.05	t = 0.46, g.l. 12 P > 0.05	t = 0.99, g.l. 12 P > 0.05

Los pesos se expresan en media ± DE

Tabla 5. PESO CORPORAL POR GRUPO

GRUPO	PESO (g) X ± DE	GRUPOS COMPARADOS (PRUEBA DE BONFERRONI)
I (n = 14)	60.54 ± 5.62	I vs. II P < 0.001
II (n = 14)	43.67 ± 2.73	I vs. III P < 0.001
III (n = 14)	43.75 ± 2.09	II vs. III P > 0.05

Grupo I: ratones de laboratorio con lipomas

Grupo II: ratones de laboratorio sin lipomas

Grupo III: ratones silvestres

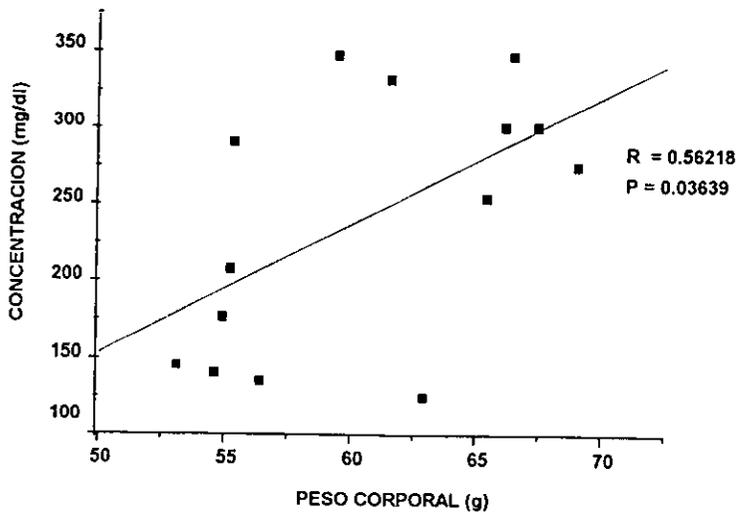


Fig. 6. El peso corporal de los ratones de laboratorio con lipomas (grupo I) se correlacionó con la concentración sérica de triglicéridos.

IX. DISCUSION

9.1. Hallazgos histológicos

Las características histológicas observadas en el hígado de los ratones de los grupos II y III correspondieron a las propias de la histología normal; sin embargo, en los ratones con lipomas (grupo I), la presencia de pequeñas y múltiples vacuolas lipídicas intracitoplásmicas positivas a la tinción de Sudán IV confirmó la existencia de esteatosis hepática. De acuerdo con Chandrasoma y Taylor (1994), Cohen *et al.* (1997) y Delzenne *et al.* (1997) estos hallazgos, en humanos, corresponden a una esteatosis hepática microvacuolar. Clain y Lefkowitz (1987) señalan que la esteatosis microvacuolar en personas obesas está asociada con alteraciones metabólicas en la disposición de lípidos hepáticos, incluyendo desórdenes en la secreción y biosíntesis de lipoproteínas, incremento en los niveles de ácidos grasos y otras sustancias lipogénicas en la célula hepática, efectos tóxicos de drogas y enfermedades virales hepáticas. En los ratones de los volcanes con lipomas podría estar ocurriendo algo similar, pues aunque la acumulación de tejido adiposo hiperplásico se localiza en regiones corporales específicas, este proceso es semejante al que se observa en la obesidad generalizada.

En este roedor las vacuolas lipídicas intracitoplásmicas se distribuyeron principalmente en la región periportal, y en forma difusa hacia la centrolobulillar. En humanos hiperalimentados la distribución de las vacuolas lipídicas predomina en la región periportal, observándose en estos casos esteatosis macrovacuolar. La distribución periportal de las vacuolas lipídicas, se ha señalado, que es distintiva de malnutrición proteico-calórica, deficiencia de proteínas e intoxicación por fósforo (Clain y Lefkowitz, 1987).

En ratas Wistar en las que se indujo esteatosis hepática con dietas con un alto contenido de carbohidratos (3.88 Kcal/g), se señala que la distribución de las vacuolas lipídicas, 6 horas después de la ingesta, fue más marcada en la región periportal; sin embargo, 48 horas después se observó una mayor densidad de éstas en la región

centrolobulillar. Estos cambios en la distribución de las vacuolas lipídicas, según Delzenne *et al.* (1997) pueden representar estados de evolución de la esteatosis hepática.

La esteatosis hepática observada en los ratones de los volcanes con lipomas (grupo I) se caracterizó por no presentar lesiones necrótico-inflamatorias, las cuales se han observado cuando ésta se induce con dietas deficientes en factores lipotrópicos y/o intoxicación por fósforo, alcohol, tetracloruro de carbono, entre otros (Rogers y Newberne, 1973; Delzenne *et al.*, 1997).

9.2. Tamaño de los hepatocitos

Los hepatocitos de los ratones del grupo I presentaron hipertrofia. A este respecto, se ha señalado que en la esteatosis hepática, la acumulación excesiva de lípidos puede producir un incremento sustancial en el tamaño de estas células (Anderson y Kissane, 1977; Pérez-Tamayo, 1990; Tierney *et al.*, 1996).

La diferencia significativa en el tamaño de los hepatocitos de los ratones silvestres (grupo III) y de laboratorio sin lipomas (grupo II), puede deberse a diferencias fisiológicas, determinadas por las condiciones del habitat, por ejemplo, la demanda energética de un animal en su habitat natural es más elevada en relación al cautiverio, puesto que éste tiene que desplazarse para obtener alimento, huir de depredadores y conservar su homeostasis en un medio cambiante. En tal caso la función hepática puede incrementarse e influir en el tamaño de los hepatocitos. Por otra parte, la alimentación de los ratones de los volcanes en vida silvestre, en los meses en que fueron capturados (noviembre a diciembre), según Alvarez y Mayo-Aceves (1993) está constituida principalmente por vegetales con alto contenido de carbohidratos, los cuales pueden ser almacenados en el tejido hepático en forma de glucógeno y/o lípidos pudiendo aumentar el tamaño de los hepatocitos.

La diferencia en el número de núcleos de los hepatocitos de los ratones de los tres grupos, podría estar reflejando los diferentes estados de actividad mitótica del hígado de éstos. La presencia de dos núcleos en el hepatocito no debe considerarse un

hallazgo patológico debido a que en humanos y en otras especies, por ejemplo, en la rata de laboratorio se señala que en condiciones fisiológicas normales aproximadamente el 25 % de estas células son binucleadas (Fawcett, 1994; Boya, 1996).

9.3. Concentración sérica de triglicéridos

Debido a que no se encontraron diferencias significativas consistentes en la concentración sérica de triglicéridos entre las hembras y los machos de un mismo grupo, sólo se discutió a nivel de grupos. Los ratones de laboratorio con lipomas presentaron la concentración sérica de triglicéridos más elevada. Estos resultados señalan que la presencia de esteatosis hepática está asociada a hipertrigliceridemia, a este respecto, en humanos, se ha señalado que la esteatosis hepática puede estar asociada con algunas dislipemias, como hipertrigliceridemia o hipercolesterolemia, o bien, a la asociación de ambas alteraciones, aunque es posible encontrar otros factores de riesgo vinculados a esta patología, tales como la ingesta de alcohol, la diabetes mellitus y la obesidad (Cohen *et al.*, 1997).

Los ratones de laboratorio sin lipomas (grupo II) presentaron una concentración sérica de triglicéridos significativamente más elevada en relación a la observada en los ratones silvestres (grupo III), posiblemente debido a las diferencias en la alimentación, locomoción y termorregulación.

9.4. Peso corporal de los animales

Los ratones con lipomas (grupo I) presentaron un peso corporal significativamente superior a los de los grupos II y III. Estos resultados sugieren que la acumulación excesiva de tejido adiposo en el individuo es un factor de riesgo en el desarrollo de la esteatosis hepática y que el sexo femenino parece ser más susceptible debido a que las hembras del grupo I fueron significativamente más pesadas que los machos de este mismo grupo.

Estos hallazgos deben tomarse con reserva debido a que el tamaño de la muestra utilizado fue pequeño. En otros estudios realizados en humanos se señala que la obesidad constituye uno de los principales factores predisponentes en el origen de la esteatosis hepática, sobretodo en el sexo femenino (Kern *et al.*, 1973; Moreno y Castellano, 1993; Cohen *et al.*, 1997).

Por otra parte, el peso corporal de los animales con lipomas (grupo I) se correlacionó positivamente con la concentración sérica de triglicéridos. A este respecto, se menciona que la esteatosis hepática del obeso se debe a un aumento en la síntesis de AG, esencialmente triglicéridos derivados de la glucosa en exceso (Cohen *et al.*, 1997).

9.5. Posibles factores etiológicos de la esteatosis hepática en el ratón de los volcanes

Aunque la acumulación de tejido adiposo en el ratón de los volcanes no es generalizada, posiblemente ésta constituye uno de los principales factores etiológicos implicados en la esteatosis hepática. Se ha observado que las ratas Zucker obesas, a diferencia de las no obesas de su misma cepa, desarrollan esteatosis hepática debido a la excesiva síntesis y almacenamiento de triglicéridos (Bach *et al.*, 1980; Fukuda *et al.*, 1982; Koneru *et al.*, 1995). En el ratón de los volcanes, como ya se mencionó, se observó hipertrigliceridemia. Esta dislipemia pudo ser ocasionada por el flujo excesivo de AGL hacia el hígado induciendo la sobreproducción de LPMBD que podría exceder la capacidad de excreción hepática.

Sin bien, la acumulación de tejido adiposo en el ratón de los volcanes parece ser uno de los principales factores de riesgo en la esteatosis hepática, entonces, habría que discutir los factores que contribuyen a su acumulación, dentro de los cuales figuran el nivel energético de la dieta, la predisposición genética y la reducción en la actividad motora.

Aunque a los animales se les proporcionó una dieta nutricionalmente balanceada para roedores de laboratorio, el nivel energético (3.50 Kcal/g de energía digestible, 2.88 Kcal/g de energía metabólica) de ésta quizá sea superior al requerido

por el ratón de los volcanes. Esta posibilidad tiene mayor fundamento al encontrarse que aún los ratones de laboratorio sin lipomas fueron significativamente más pesados que los silvestres. Por otra parte, es evidente que el requerimiento energético de un animal (incluido el humano) es directamente proporcional a las condiciones ambientales de su habitat y a la actividad motora que desarrolla, entre otros factores. Estos resultados plantean la necesidad de realizar otros estudios que permitan establecer los requerimientos energéticos de este roedor en su ambiente natural, a fin de extrapolarlos al cautiverio.

Otro de los posibles factores implicados en el desarrollo de lipomas y de la esteatosis hepática es la predisposición genética en este roedor, debido a que no todos los ratones silvestres introducidos al cautiverio o los nacidos en él desarrollan estas patologías.

9.6. El ratón de los volcanes como modelo experimental para el estudio de la esteatosis hepática

La necesidad de nuevos modelos animales para el estudio de la esteatosis hepática ha sido propuesta recientemente por Koneru *et al.* (1995). Actualmente, se tienen modelos estandarizados para el estudio de esta patología originada por la deficiencia de factores lipotrópicos (Rogers y Newberne, 1973). Asimismo, se han obtenido modelos de esteatosis hepática temporal, administrando a ratas Wistar dietas hipercalóricas (Cohen *et al.*, 1997). Otro modelo en el estudio de esta patología es la rata Zucker, la cual es una cepa endogámica que se caracteriza por desarrollar obesidad, hiperglucemia y esteatosis hepática, debido a una mutación genética (Fukuda *et al.*, 1982).

El ratón de los volcanes podría constituir un nuevo modelo para el estudio de las alteraciones metabólicas que conllevan al desarrollo de la esteatosis hepática, teniendo la ventaja de ser espontáneo y además por su condición exogámica, los resultados del estudio de esta patología, podrían ser extrapolables al humano.

Asimismo, el modelo podría ser aplicable en el estudio conjunto de la obesidad y la esteatosis hepática.

IX. CONCLUSIONES

- La presencia de lipomas en el ratón de los volcanes se encuentra asociada a la presencia de esteatosis hepática microvacuolar periportal.
- La esteatosis hepática observada en los ratones con lipomas se caracterizó por no presentar lesiones necrótico-inflamatorias.
- En la esteatosis hepática de los ratones con lipomas se observó hipertrofia de los hepatocitos.
- El peso corporal de los ratones con lipomas se correlacionó positivamente con la hipertrigliceridemia.
- Los niveles energéticos de la dieta, la predisposición genética y la hipoactividad son factores implicados en el desarrollo de lipomas y de esteatosis hepática en este roedor.
- El ratón de los volcanes es un modelo animal adecuado para el estudio de las alteraciones del metabolismo de los lípidos, específicamente en la obesidad y la esteatosis hepática.

XI. LITERATURA CITADA

- Alvarez, T y Mayo-Aceves, E. Contribución al conocimiento de los hábitos alimenticios del ratón de los volcanes, *Neotomodon alstoni*, (Merriam, 1898). Acta Zool. Mex. 1993; (59): 1-51.
- Anderson, W. A. D. y Kissane, J. M. (1977). Pathology. 7th. ed. , The C.V. Mosby Company, Saint Louis, U.S.A., Vol. I., pp. 1012.
- Anderson, W. A. D. y Kissane, J. M. (1977). Pathology. 7th. ed. , The C.V. Mosby Company, Saint Louis, U.S.A., Vol. II., pp. 1135.
- Andrade Dos Santos, J. (1979). Patología general de los animales domésticos (mamíferos y aves). Nueva Editorial Interamericana, México, pp. 434.
- Bach, A. , Schirardin, H. , Chanussot, F. , Bauer, M. y Weryha, A. Effects of medium and long chain triglyceride diets in the genetically obese Zucker rat. J. Nutr. 1980; 110: 686.
- Boya Vegue, J. (1996). Atlas de histología y organografía microscópica. Panamericana, México, pp. 419.
- Cardenal, L. (1960). Diccionario terminológico de ciencias médicas. 7a. ed., Salvat Editores, S.A., Barcelona, España, pp. 1304.
- Carmona Castro, A. (1994). Morfología macroscópica e histológica de los lipomas espontáneos en el ratón de los volcanes (*Neotomodon a. alstoni*), silvestre y nacido en el laboratorio. Tesis profesional. Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, UNAM, México.
- Chandrasoma, P. y Taylor, C. R. (1994). Patología general. El Manual Moderno, México, pp. 1020.
- Chávez Tapia, C. (1988). Diversidad y comportamiento poblacional de una comunidad de roedores de la Sierra del Ajusco. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México.

- Chávez, C. y Villegas, R. (1993). Demografía y reproducción de *Neotomodon alstoni* en la Sierra del Ajusco, México. En: Avances en el estudio de los mamíferos de México (Ed. By R. A. Medellín y G. Ceballos), publicaciones especiales, Asociación Mexicana de Mastozoología, 1: 317-331.
- Cohen, H., González, M. y Ramírez, M. Etiología y diagnóstico de la esteatosis hepática. Rev. Med. Uruguay 1997; (13): 4-11.
- Clain, D. J. y Lefkowitz, J. H. Fatty liver in morbid obesity. Gastroenterol. Clin. N. Am. 1987; 16 (2): 239-252.
- Contreras Rodríguez, R. (1989). Anatomía patológica general. Interamericana Mc Graw-Hill, México, pp. 600.
- Delzenne, N. M., Hernaux, N. A. y Taper, H. S. A new model of acute liver steatosis induced in rats by fasting followed by refeeding a high carbohydrate-fat free diet. Biochemical and morphological analysis. J. Hepatol. 1997; (26): 880-885.
- Díaz Zagoya, J. C. y Hicks Gómez, J. J. (1988). Bioquímica e inmunología. Facultad de Medicina, UNAM, México, Vol. I, pp. 793.
- Díaz Zagoya, J. C. y Hicks Gómez, J. J. (1988). Bioquímica e inmunología. Facultad de Medicina, UNAM, México, Vol. II, pp. 569.
- Estrada Flores, E., Peralta Zamora, L. y Rivas Manzanó, P. (1982). Manual de técnicas histológicas. AGT EDITOR, S.A., México, pp. 140.
- Farías Martínez, G. (1988). Química clínica. El Manual Moderno, México, pp. 681.
- Fawcett, D. W. (1994). Tratado de histología. 11a. ed. Interamericana-Mc Graw-Hill, México, pp. 1026.
- Fukuda, N., Azain, M. y Ontko, J. A. Altered hepatic metabolism of free fatty acids underlying hypersecretion of very low density lipoproteins in the genetically obese Zucker rat. J. Biol. Chem. 1982; 257: 14066-14073.
- Granados, H., Luis, J., Carmona, A., Espinosa, G. y Arenas, T. Comportamiento agresivo del macho del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni* (Rodentia: Cricetidae). Rev. Biol. Trop. 1996; 44 (2): 861-865.

- Hafez, E. S. E. y Dyer, N. (1975). Animal growth and nutrition. Lea and Febiger, USA, pp. 402.
- Herrera, E. (1991). Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas. 2a. ed., Interamericana-Mc Graw-Hill, Madrid, España, Vol. I., pp. 922.
- Kaplan, L. A. & Pesce, A. J. (1989). Clinical chemistry. 2a. ed. The C.V. Mosby Company, USA, pp. 1149.
- Kern, W. H., Heger, A. H., Payne, J. H. y DeWind, L. T. Fatty metamorphosis of the liver in morbid obesity. Arch. Pathol. 1973; 96: 342.
- Koneru, B., Reddy, M. C., Dela Torre, A. N., Patel, D., Ippolito, T. y Ferrante, R. J. Studies of hepatic warm ischemia in the obese Zucker rat. Transplantation 1995; 59 (7): 942-946.
- Latner, A. L. (1975). Clinical chemistry. 7a. ed. W.B. Saunders Company, USA, pp. 918.
- Lesson, T. S., Lesson, C. R. y Paparo, A. A. (1990). Texto/Atlas de histología. Interamericana-Mc Graw-Hill, México.
- Lorenz, M. D. y Cornelius, L. M. (1990). Diagnóstico médico de los pequeños animales. Editorial ACRIBIA, Zaragoza, España.
- Luis, J., Cárdenas, R., Espinosa, G. y Carmona, A. (1998). Paternal behaviour in the volcano mouse, *Neotomodon alstoni alstoni* (Rodentia: Cricetidae). Animal behaviour (en prensa).
- Montgomery, R., Conway, T. W. y Spector, A. A. (1992). Bioquímica. Casos y texto. 5a. ed. Mosby-Year Book Wolfe publishing, Madrid, España, pp. 881.
- Moreno Sánchez, D. y Castellano Tortajada, G. El hígado en la obesidad. Gastroenterol. Hepatol. 1993; 16 (8): 550-555.
- Olivera, L. J. (1984). Reproducción de *Neotomodon a. alstoni* (Rodentia: Cricetidae) en condiciones de laboratorio. Tesis de Maestría. U.A.M. Iztapalapa, México.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Olivera, J., Ramírez-Pulido, J. y Williams, S. (1986). Reproducción de *Peromyscus (Neotomodon) alstoni* (Mammalia: Muridae) en condiciones de laboratorio. *Acta. Zool. Mex.*, (16): 1-27.
- Pérez Tamayo, R. (1990). Principios de patología. 3a. ed. Editorial Médica Panamericana, México, pp. 1102.
- Rogers, A. E. y Newberne, P. M. Fatty liver and cirrhosis in lipotrope-deficient male rats. *Am J Pathol* 1973; 73 (3): 817-820.
- Rogers, A. E. (1979). In: *The laboratory rat*, pp. 123-146 (Baker, H. J., Lindsey, J. R. y Weisbroth, S. H. eds.) Academic Press, Nueva York.
- Tierney, L. M., McPhee, S. J. y Papadakis, M. A. (1996). Diagnóstico clínico y tratamiento. 31a. ed., *El Manual Moderno*, México, pp. 1579.
- Villa, R. B. (1953). Mamíferos silvestres del valle de México. *An. Inst. Biol., UNAM*, (23): 269-492.
- Waynforth, H. B. y Flecknell, P. A. (1994). *Experimental and surgical technique in the rat*. Academic Press, London, pp 382.
- Winter Griffith, H. (1989). *Complete guide to pediatric symptoms, illness & medications*. The Putnam Berckley Group, USA.